

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-255671

(43)Date of publication of application : 21.09.1999

(51)Int.Cl.

C07B 57/00
B01D 15/08
C07D217/04
// C07M 7:00

(21)Application number : 10-059289

(71)Applicant : DAICEL CHEM IND LTD

(22)Date of filing : 11.03.1998

(72)Inventor : ONISHI ATSUSHI

(54) CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF OPTICAL ISOMER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a chromatographic separation of optical isomers in which a polysaccharide derivative chiral stationary phase is used as a chiral stationary phase and the mobile phase that has high separation performance, particularly giving a high fractionation productivity in the fractionation process, is used as a mobile phase.

SOLUTION: In this chromatographic separation of optical isomers, a polysaccharide derivative chiral stationary phase is used as a chiral stationary phase, while a mixed solvent comprising a solvent selected from the group consisting of ethers, ketones, esters, amides and halogenated solvents, and hydrocarbon solvents is used as a mobile phase solvent.

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1]Using a polysaccharide derivative system chiral stationary phase as a chiral stationary phase as a mobile phase solvent, A chromatography separation method of an optical isomer using a solvent chosen from a group which consists of an ethers solvent, ketones, an ester solvent, an amide series solvent, and a halogen system solvent, and a partially aromatic solvent which consists of combination with a hydrocarbon system solvent.

[Claim 2]A solvent chosen from a group which a partially aromatic solvent becomes from a tetrahydrofuran, acetone, ethyl acetate, N,N-dimethylformamide, N,N-dimethylacetamide, chloroform, and a methylene chloride, A chromatography separation method of the optical isomer according to claim 1 which is what consists of combination with hexane.

[Claim 3]A chromatography separation method of the optical isomer according to claim 1 or 2 to which a polysaccharide derivative system chiral stationary phase makes a carrier carry out the chemical bond of the polysaccharide derivative.

[Claim 4]A chromatography separation method of the optical isomer according to claim 1 or 2 over which a polysaccharide derivative system chiral stationary phase makes polysaccharide derivatives construct a bridge after coating a carrier with a polysaccharide derivative.

[Claim 5]A chromatography separation method of the optical isomer according to claim 1 or 2 in which a polysaccharide derivative system chiral stationary phase makes the polysaccharide derivative surface cover synthetic polymer after coating a carrier with a polysaccharide derivative.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention relates to the chromatography separation method with which high preparative isolation productivity is obtained, when performing chromatography preparative isolation especially about the chromatography separation method which has the high separation effect in the optical resolution of an optical isomer.

[0002]

[Description of the Prior Art]It is known well that the optical-resolution capability for ester derivatives, such as polysaccharide, its derivative, for example, cellulose, and amylose, and a carbamate derivative to be expensive is shown from the former. Optical-resolution ability with a broad separating medium for chromatography which adsorbed these and made them support physically on silica gel, It is also known well that it is the outstanding separating medium which shows a high number of stages and endurance (Y. Okamoto, M.Kawashima and KHatada, J.Am.Chem.Soc., 106, 5357, 1984 grades).

[0003]However, in the above-mentioned physical-adsorption type separating medium, the solvent which makes a polysaccharide derivative dissolve or swell could not be used for the mobile phase, but separating condition selection had restrictions. There was a fault that a washing solvent was restricted, also in washing of the pollutant to which it sticks to a separating medium strongly. from these faults, the chemical bond of the ** polysaccharide derivative is directly carried out to silica gel (JP,62-270,602,A.) After coating silica gel with ** polysaccharide derivatives, such as JP,7-138,301,A, After making polysaccharide derivatives construct a bridge (JP,8-59,702,A etc.) or coating silica gel with ** polysaccharide derivative, by the things (Japanese Patent Application No. No. 271,064 [nine to] etc.) which you make the polysaccharide derivative surface cover synthetic polymer. A polysaccharide derivative is fixed to silica gel and the fixed type separating medium which gives solvent resistance is also proposed.

[0004]Now, the method (manufacturing method) of isolating preparatively the optical isomer using a polysaccharide derivative system chiral stationary phase attracts attention in recent years, The isolating method for some specific separation subjects is proposed, respectively (JP,61-161,226,A, JP,61-267,536,A, JP,2-69,456,A, WO 95/No. 23125 gazette, etc.).

[0005]However, since the chiral stationary phase currently indicated by these prior art references is a physical-adsorption type separating medium, the kind of mobile phase solvent is restricted and hexane/alcohols solvent is almost the case. In this case, by a soluble low sample (separation subject), there was demerit in which only low preparative isolation productivity was obtained, to hexane/alcohols solvent.

[0006]On the other hand, about the concrete mobile phase in the case of performing chromatography separation of an optical isomer using the aforementioned fixed type separating medium, research was not yet made well and it was not known about the mobile phase which gives high preparative isolation productivity especially.

[0007]In high separation performance, especially preparative isolation, in the chromatography separation method with which the polysaccharide derivative system chiral stationary phase was used for the issue which this invention tends to solve under such a background as a chiral stationary phase, it is providing the chromatography separation method of the optical isomer which uses the mobile phase solvent which gives high preparative isolation productivity.

[0008]

[Means for Solving the Problem]this invention person reached this invention, as a result of inquiring wholeheartedly, in order to solve the aforementioned technical problem. Namely, a chromatography separation method of an optical isomer, wherein a partially aromatic solvent characterized by comprising the following is used for this invention.

A solvent chosen from a group which consists of an ethers solvent, ketones, an ester solvent, an amide series solvent, and a halogen system solvent as a mobile phase solvent using a polysaccharide derivative system

chiral stationary phase as a chiral stationary phase (it is henceforth called B solvent).
Combination with a hydrocarbon system solvent (it is henceforth called A solvent).

[0009]

[Embodiment of the Invention] Hereafter, an embodiment of the invention is described in detail.

[0010] In this invention, a polysaccharide derivative system chiral stationary phase, . Are a fixed type separating medium and specifically carry out the chemical bond of the ** polysaccharide derivative to a carrier directly. ** By making the polysaccharide derivative surface cover synthetic polymer, fix a polysaccharide derivative to a carrier and give solvent resistance, after making polysaccharide derivatives construct a bridge after coating a carrier with a polysaccharide derivative, or coating a carrier with ** polysaccharide derivative. These polysaccharide derivative system chiral stationary phase can be manufactured by the publicly known method of a statement to said prior art reference. The polysaccharide derivative system chiral stationary phase which gave insolubility may be sufficient by processing an optical exposure, a radical polymerization, etc. besides these.

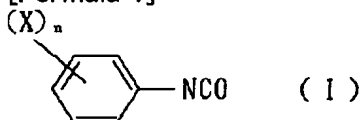
[0011] As long as the polysaccharide which forms the polysaccharide derivative system chiral stationary phase of this invention is optical activity regardless of either a synthetic polysaccharide, a natural polysaccharide and a natural product conversion polysaccharide, what kind of thing may be sufficient as it, but the desirable high thing of the regularity of a bond form is desirable. if it illustrates -- beta-1,4-glucan (cellulose) and alpha-1,4 - glucan (amylose.) Amylopectin and alpha-1,6 - glucan (dextran) and beta-1,6 - glucan (BUSUTSURAN), beta-1,3 - glucan (for example, curdlan, sizofiran, etc.) and alpha-1,3 - glucan, beta-1,2 - glucan (Crown Gall polysaccharide), beta-1, and 4 - galactan, beta-1,4 - mannan and alpha-1,6 - mannan and beta-1,2 - cell tongue (inulin), beta-2,6 - cell tongue (levan) and beta-1,4 - xylan, beta-1,3-xylan, and beta-1,4 - chitosan and alpha-1,4 It is -N-acetyl chitosan (kitchen), pullulan, agarose, alginic acid, etc., and the starch containing amylose is also contained. The cellulose which can obtain the polysaccharide of a high grade easily in these, amylose, and beta-1,4 - xylan and beta-1,4 - chitosan, a kitchen, and beta-1,4 - mannan, inulin, curdlan, etc. are preferred and especially cellulose and amylose are preferred.

[0012] Although the number average degree of polymerization (the pyranose contained in one molecule or mean number of a furanose ring) of these polysaccharides is ten or more and a maximum in particular does not have it preferably five or more, it is desirable that it is 500 or less in respect of the ease of handling.

[0013] The compound produced by derivatizing when an ester bond, a urethane bond, or an ether bond makes some hydroxyl groups of the above polysaccharides carry out the compound which has a functional group which can react to this hydroxyl group by a publicly known method conventionally as a polysaccharide derivative used for this invention is mentioned. As a compound which has a functional group which can react to a hydroxyl group here, An isocyanic acid derivative, carboxylic acid, ester, acid halide, an acid amide, If it is a compound which has a halogenide, an epoxy compound, aldehyde, alcohol, or other leaving groups, what kind of thing may be used and such aliphatic series, alicycle fellows, aromatic series, and hetero aromatic compounds can be used. In these compounds, especially the compound expressed with following general formula (I) is preferred.

[0014]

[Formula 1]



[0015] (X show the alkyl group of a halogen atom or the carbon numbers 1-3 among a formula, and n shows the number of 1-3.)

Especially a desirable thing is per one monosaccharide as a polysaccharide derivative used for this invention. It is ester or the carbamate derivative of a polysaccharide which has 0.1 or more ester bonds or urethane bonds.

[0016] As a carrier used when manufacturing a polysaccharide derivative system chiral stationary phase of this invention, a porosity organicity carrier or a porosity inorganic carrier is mentioned, and it is a porosity inorganic carrier preferably. A thing a thing suitable as a porosity organicity carrier is a polymeric material which consists of polystyrene, polyacrylamide, polyacrylate, etc., and suitable as a porosity inorganic carrier, It is silica, alumina, magnesia, glass, kaolin, titanium oxide, a silicate, hydroxyapatite, etc., and especially a desirable carrier is silica gel. particle diameter of a carrier 0.1 micrometer - 10 mm -- desirable -- 1 micrometer - it is 300 mum -- an average pore size -- 10A - 100 mum -- it is 50A-50000 ** preferably. As for the surface, when using silica gel as a carrier, in order to eliminate influence of a residual silanol, it is desirable but to perform a surface treatment, and it is satisfactory even if a surface treatment is not

performed at all.

[0017]Although a mobile phase solvent is a partially aromatic solvent which combined the above-mentioned A solvent and B solvent in this invention, As an ethers solvent, among B solvents, a tetrahydrofuran (THF) etc., as ketones -- acetone etc. -- as an ester solvent, N,N-dimethylformamide, N,N-dimethylacetamide, etc. are mentioned as an amide series solvent, and ethyl acetate etc. are mentioned for chloroform, a methylene chloride, etc. as a halogen system solvent. Hexane etc. are mentioned as a hydrocarbon system solvent of A solvent. As for a rate of a compounding ratio of A solvent in a partially aromatic solvent used for this invention, and B solvent, A/B(capacity factor) =95 / 5 - 10/90 are preferred, and 90 / 10 - 20/80 are still more preferred.

[0018]Although seldom applied to the conventional physical-adsorption type separating medium from a soluble point of a polysaccharide derivative, since a fixed type separating medium was used for a mobile phase solvent in this invention in this invention, it became applicable. In a mobile phase solvent in this invention, a little diethylamines or trifluoroacetic acid can be added if needed. By application of a mobile phase solvent in this invention, compared with the conventional hexane/alcohols solvent, the separation performance became good at a surprising forge fire, and preparative isolation productivity improved.

[0019]A chromatography separation method of an optical isomer of this invention is applicable also in a batch process process by a single column, or a simulated moving bed method process of continuous system which continued two or more columns.

[0020]

[Effect of the Invention]With the chromatography separation method of the optical isomer of this invention, high preparative isolation productivity is obtained and the manufacture of an optically active substance of the case of high separation performance, especially preparative isolation is attained economically.

[0021]

[Example]Although an example is raised to below and this invention is explained to it still in detail, this invention is not limited to these examples, in the range of the gist of this invention, can change suitably and can be carried out. In the example, the separation factor alpha was calculated by the following formulas.

[0022]

[Equation 1]

$$\text{分離係数 } \alpha = \frac{\text{より強く吸着されるエナンチオマーの容量比}(k')}{\text{より弱く吸着されるエナンチオマーの容量比}(k')}$$

ここで容量比(k')は次式により定義される。

$$\text{容量比}(k') = \frac{\text{エナンチオマーの保持時間} - \text{デッドタイム}}{\text{デッドタイム}}$$

[0023]the manufacture ** silica gel surface inactivation process porous silica gel (the DAISO Co., Ltd. make.) of the chiral stationary phase over which polysaccharide derivatives were made to construct a bridge after coating silica gel with example of manufacture 1 polysaccharide derivative Aminopropyl silanizing (APS processing) was performed by making SP-1000, the particle diameter of 7 micrometers, and 1000 A of average pore sizes react to 3-aminopropyl triethoxysilane. This APS processing silica gel It is a methylene chloride about 200 g. It is 3,5 at the inside of 1.0 l., and a room temperature. 15 ml of - dimethylphenyl isocyanates It was made to react for 1.5 hours. This was separated with the glass filter, and vacuum drying was performed after washing one by one by methylene chloride/methanol =2/1 and a methylene chloride, ethanol, acetone, and hexane.

[0024]** Cellulose 6-hydroxy- 2,3 By the glucose unit compounded by the publicly known method under the synthetic nitrogen atmosphere of - screw (3, 5 - dimethylphenyl carbamate). trityl cellulose to which 0.9 to 1.0 trityl radical reacted melting 4.0 g in dry pyridine -- 3,5 10 ml of - dimethylphenyl isocyanates -- in addition, it stirred at 100 ** for 25 hours. It is methanol about this. It poured into 700 ml, the depositing solid was separated, and it washed by ethanol and hexane, and stirred after desiccation in methanol containing concentrated hydrochloric acid (per [cellulosic 1.0g], 0.25-ml concentrated hydrochloric acid and 40-ml methanol), and the trityl radical was removed. The detritylated cellulosic is separated, and it washes and dries by ethanol and hexane, and is the cellulose 6-hydroxy- 2,3. 14.9 g of - screws (3, 5 - dimethylphenyl carbamate) were obtained.

[0025]** Cellulose 6-hydroxy- 2,3 Cellulose 6-hydroxy- 2,3 obtained by preparation ** of the silica gel in which - screw (3,5 - dimethylphenyl carbamate) was supported - screw (3, 5 - dimethylphenyl carbamate) 1.5 g. It dissolves in 8-ml THF and is silica gel of ** about this. 5.7 g was sprinkled uniformly and it applied to it. Silica gel in which it washed one by one, it dried by methanol, ethanol, and hexane, and the cellulosic was supported after distilling off a solvent 7.1 g was obtained.

[0026]** Silica gel in which the cellulosic obtained by fixed ** to silica gel by the crosslinking reaction of

cellulosics was supported To 6.7 g. adding 35 ml of dry toluene -- further -- 110 mg of diphenylmethane diisocyanate, and 5 ml of dry pyridine solution -- in addition, heating stirring was carried out at 110 ** for 5 hours. Separating medium which performed vacuum drying and was fixed by the crosslinking reaction of cellulosics to silica gel after separating and washing one by one by THF, methanol, ethanol, and hexane after ending reaction 6.8 g was obtained.

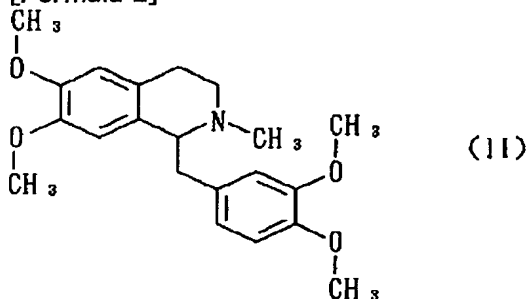
[0027]** To the separating medium obtained by ornamentation ** of the unreacted hydroxyl group of the cellulosic fixed by silica gel. 25 ml of dry toluene and 25 ml of dry pyridine are added, and it is 3.5 further. - dimethylphenyl isocyanate 0.5 ml is added, Heating stirring was carried out at 110 ** for 18 hours, and carbamoylation of the unreacted hydroxyl group of the cellulosic fixed by the crosslinking reaction of cellulosics to silica gel was performed. The last separating medium which performed vacuum drying and was obtained as a result after separating and washing one by one by THF, methanol, ethanol, and hexane after ending reaction It was 6.9g. The holding amount of the cellulosic to silica gel was 20% (2.7 among three hydroxyl groups of the glucose unit in cellulose it calculates noting that carbamoylation of the individual is carried out).

[0028]Separating medium fixed by the crosslinking reaction of the cellulosics manufactured by restoration ** to the column of the separating medium obtained by **** on silica gel Use methanol for a distributed solvent and a pressurized solvent, and 3.5 g by the slurry filling-up method. The column made from stainless steel 25 cm in length and 0.46 cm in inside diameter was filled up. The pressure at this time was 250 kgf/cm².

[0029]Optical resolution of the racemate of the laudanosine expressed with following formula (II) according to a following condition was carried out using the partially aromatic solvent shown in Table 1 as Examples 1-3 and comparative example 1 mobile phase solvent. A result is shown in Table 1.

[0030]

[Formula 2]



[0031]<Optical-resolution condition> chiral stationary phase: The separating-medium mobile phase rate of flow manufactured in the example 1 of manufacture : 1.0 ml/min temperature : 40 ** detection : 254-nm sample concentration : The amount of 2 mg/1.0ml placing : 20microl [0032]

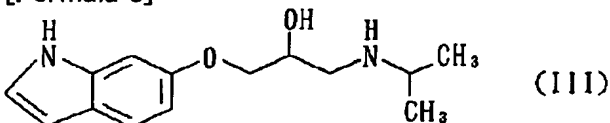
[Table 1]

	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例 1	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =65/35/0.1	4.35
実施例 2	ヘキサン/酢酸エチル/ジエチルアミン =75/25/0.1	4.28
実施例 3	ヘキサン/塩化メチレン/ジエチルアミン =50/50/0.1	3.18
比較例 1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1	2.74

[0033]Optical resolution of the racemate of the pindolol expressed with following formula (III) according to a following condition was carried out using the partially aromatic solvent shown in Table 2 as Examples 4-6 and comparative example 2 mobile phase solvent. A result is shown in Table 2.

[0034]

[Formula 3]



[0035]<Optical-resolution condition> chiral stationary phase: The separating-medium mobile phase rate of flow

manufactured in the example 1 of manufacture : 1.0 ml/min temperature : 40 ** detection : 254-nm sample concentration : The amount of 2 mg/1.0ml placing : 20microl [0036]

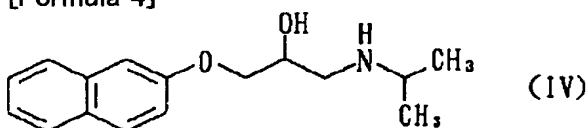
[Table 2]

	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例 4	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =75/25/0.1	2.17
実施例 5	ヘキサン/酢酸エチル/ジエチルアミン =60/40/0.1	2.08
実施例 6	ヘキサン/塩化メチレン/ジエチルアミン =20/80/0.1	2.25
比較例 2	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =75/25/0.1	1.72

[0037]Optical resolution of the racemate of the propranolol expressed with following formula (IV) according to a following condition was carried out using the partially aromatic solvent shown in Table 3 as Examples 7-9 and comparative example 3 mobile phase solvent. A result is shown in Table 3.

[0038]

[Formula 4]



[0039]<Optical-resolution condition> chiral stationary phase: The separating-medium mobile phase rate of flow manufactured in the example 1 of manufacture : 1.0 ml/min temperature : 40 ** detection : 254-nm sample concentration : The amount of 2 mg/1.0ml placing : 20microl[0040]

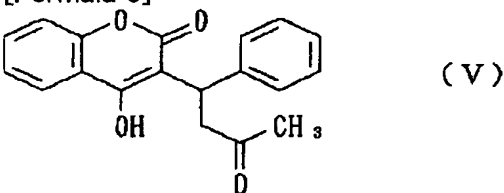
[Table 3]

	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例 7	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =80/20/0.1	1.71
実施例 8	ヘキサン/酢酸エチル/ジエチルアミン =75/25/0.1	1.33
実施例 9	ヘキサン/塩化メチレン/ジエチルアミン =75/25/0.1	1.70
比較例 3	ヘキサン/2-プロパノール/ジエチルアミン =90/10/0.1	1.37

[0041]Optical resolution of the racemate of the walfarin expressed with following formula (V) according to a following condition was carried out using the partially aromatic solvent shown in Table 4 as Examples 10-12 and comparative example 4 mobile phase solvent. A result is shown in Table 4.

[0042]

[Formula 5]



[0043]<Optical-resolution condition> chiral stationary phase: The separating-medium mobile phase rate of flow manufactured in the example 1 of manufacture : 1.0 ml/min temperature : 40 ** detection : 254-nm sample concentration : The amount of 2 mg/1.0ml placing : 20microl [0044]

[Table 4]

	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例10	ヘキサン/THF/トリフルオロ酢酸 =80/20/0.1	1.82
実施例11	ヘキサン/酢酸エチル/トリフルオロ酢酸 =80/20/0.1	1.87
実施例12	ヘキサン/塩化メチレン/トリフルオロ酢酸 =50/50/0.1	1.97
比較例 4	ヘキサン/2-プロパノール/トリフルオロ酢酸 =70/30/0.1	1.75

[0045]The separating medium which coated silica gel with the separating medium (Example 13, the comparative example 5) or cellulose tris (3, 5 - dimethylphenyl carbamate) manufactured in the example 1 of manufacture as Example 13, the comparative example 5, and 6 chiral stationary phases (trade name; [CHIRALCEL OD and] Optical resolution of the racemate of the walfarin expressed with the above-mentioned formula (V) according to a following condition was performed using the Daicel Chemical Industries, Ltd. make, the comparative examples 6, and the partially aromatic solvent shown in Table 5 as a mobile phase solvent, and the following method estimated preparative isolation productivity. A result is shown in Table 5. The chromatogram obtained by drawing 2 by the comparative example 6 in the chromatogram obtained by drawing 1 by the comparative example 5 in the chromatogram obtained in Example 13 is shown in drawing 3, respectively.

[0046]The <optical-resolution condition> mobile-phase rate of flow: 1.0 ml/min temperature : 40 ** detection : The amount of racemate placing of the maximum dissolved amount is increased by a 254-nm <preparative isolation productivity appraisal method> mobile phase, One half of the amounts of placing in the time of not carrying out baseline separation mostly (the amount of the racemate maximum placing) The amount of the enantiomer maximum placing per 1-time placing (mg/time), The peak time interval until the 2nd peak returns from the standup of the 1st peak to a baseline was set to Δt (min/time), and it asked for preparative isolation productivity (each amount of enantiomer preparative isolation per hour; mg/hr) by the following formula.

[0047]amount of the preparative isolation productivity (mg/hr) = enantiomer maximum placing (mg/time) x -- the number of times of placing per hour (a time/hr)

Here, the number of times of placing per hour is defined by the following formulas.

Number-of-times of placing (time/hr) = 60(min/hr) / Δt per hour (min/time)

[0048]

[Table 5]

	実施例 13	比較例 5	比較例 6
キラル固定相	製造例 1 で製造した分離剤	製造例 1 で製造した分離剤	CHIRALCEL OD
移動相溶剤 (容量比)	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =65/35/0.1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1
分離係数 α	4.35	2.74	1.85
ラセミ体の最大溶解量	10.0 mg/ml	5.0 mg/ml	5.0 mg/ml
ラセミ体打ち込み量	2.5 ml	3.0 ml	1.0 ml
ラセミ体最大打ち込み量	25.0 mg (10×2.5)	15.0 mg (5.0×3.0)	5.0 mg (5.0×1.0)
エナンチオマー最大打ち込み量	12.5 mg/回 (25.0/2)	7.5 mg/回 (15.0/2)	2.5 mg/回 (5.0/2)
ピークインターバル 時間 Δt	13.2 min	15.5 min	4.6 min
1時間当たり打ち込み回数	4.5 回/hr (60/13.2)	3.9 回/hr (60/15.5)	13.0 回/hr (60/4.6)
分取生産性	56.3 mg/hr (12.5×4.5)	29.2 mg/hr (7.5×3.9)	32.5mg/hr (2.5×13.0)

*** NOTICES ***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1]It is the chromatogram obtained in Example 13.

[Drawing 2]It is the chromatogram obtained by the comparative example 5.

[Drawing 3]It is the chromatogram obtained by the comparative example 6.

[Translation done.]

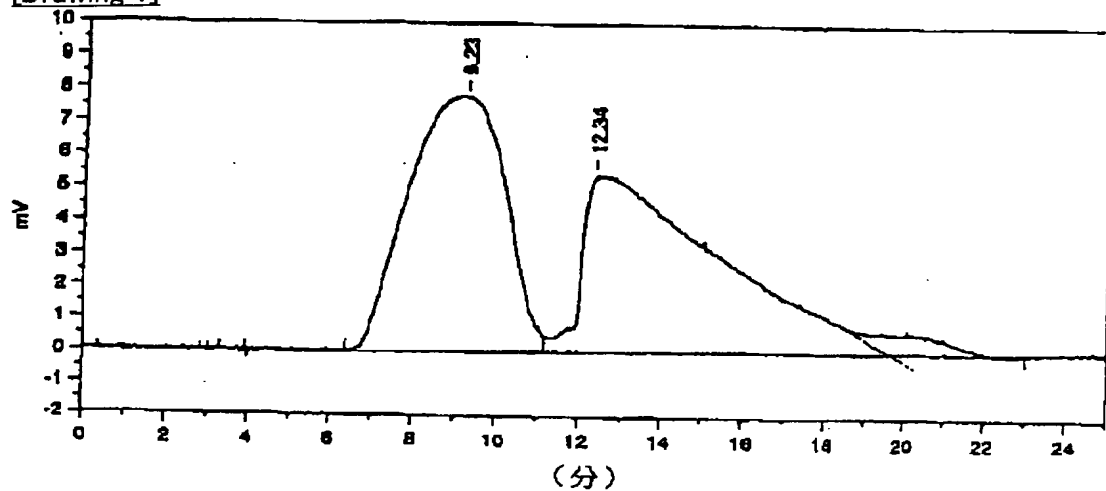
* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

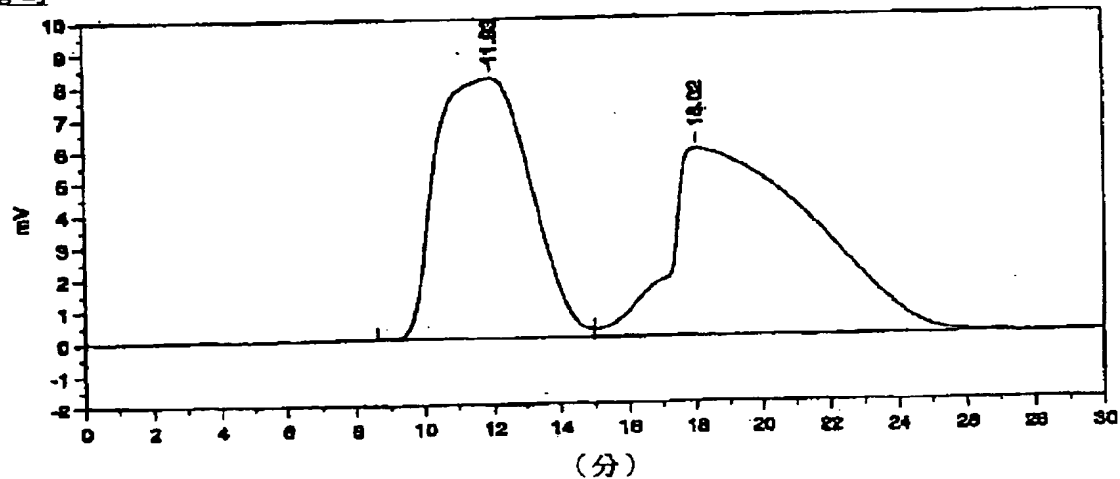
- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

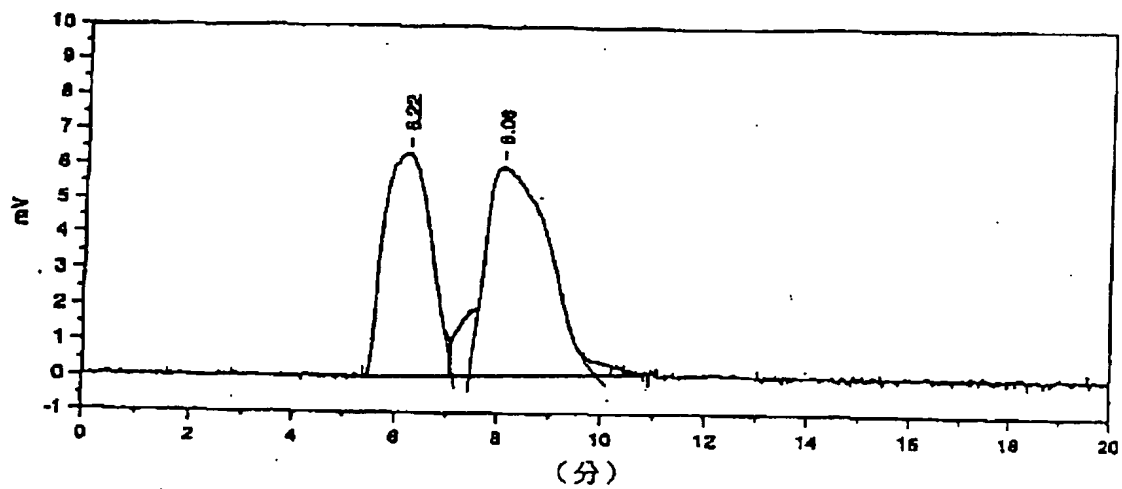
[Drawing 1]



[Drawing 2]



[Drawing 3]



[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-255671

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月21日

(51) Int.Cl.⁶
C 0 7 B 57/00
B 0 1 D 15/08
C 0 7 D 217/04
// C 0 7 M 7:00

識別記号
3 1 0

F I
C 0 7 B 57/00 3 1 0
B 0 1 D 15/08
C 0 7 D 217/04

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平10-59289
(22) 出願日 平成10年(1998) 3月11日

(71) 出願人 000002901
ダイセル化学工業株式会社
大阪府堺市鉄砲町 1 番地
(72) 発明者 大西 敦
茨城県つくば市千現 1 丁目14-14パークハ
イツ千現202
(74) 代理人 弁理士 古谷 馨 (外 3 名)

(54) 【発明の名称】 光学異性体のクロマト分離法

(57) 【要約】

【課題】 キラル固定相として多糖誘導体系キラル固定相を用いたクロマト分離法において、高い分離性能、特に分取の場合は高い分取生産性を与える移動相溶剤を使用する光学異性体のクロマト分離法の提供。

【解決手段】 キラル固定相として多糖誘導体系キラル固定相を用い、移動相溶剤として、エーテル系溶剤、ケトン系溶剤、エステル系溶剤、アミド系溶剤及びハロゲン系溶剤からなる群より選ばれる溶剤と、炭化水素系溶剤との組み合わせからなる混合溶剤を用いる光学異性体のクロマト分離法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 キラル固定相として多糖誘導体系キラル固定相を用い、移動相溶剤として、エーテル系溶剤、ケトン系溶剤、エステル系溶剤、アミド系溶剤及びハロゲン系溶剤からなる群より選ばれる溶剤と、炭化水素系溶剤との組み合わせからなる混合溶剤を用いることを特徴とする光学異性体のクロマト分離法。

【請求項 2】 混合溶剤が、テトラヒドロフラン、アセトン、酢酸エチル、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、クロロホルム及び塩化メチレンからなる群より選ばれる溶剤と、ヘキサンとの組み合わせからなるものである請求項 1 記載の光学異性体のクロマト分離法。

【請求項 3】 多糖誘導体系キラル固定相が、多糖誘導体を担体に化学結合させたものである請求項 1 又は 2 記載の光学異性体のクロマト分離法。

【請求項 4】 多糖誘導体系キラル固定相が、多糖誘導体を担体にコーティングした後、多糖誘導体同士を架橋させたものである請求項 1 又は 2 記載の光学異性体のクロマト分離法。

【請求項 5】 多糖誘導体系キラル固定相が、多糖誘導体を担体にコーティングした後、多糖誘導体表面に合成ポリマーを被覆させたものである請求項 1 又は 2 記載の光学異性体のクロマト分離法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、光学異性体の光学分割において高い分離効果を有するクロマト分離法に関し、特に、クロマト分取を行う場合に、高い分取生産性が得られるクロマト分離法に関するものである。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 従来から、多糖類やその誘導体、例えばセルロース、アミロース等のエステル誘導体、カルバメート誘導体が高い光学分割能力を示すことはよく知られている。また、これらをシリカゲル上に物理的に吸着、担持させたクロマトグラフィー用分離剤が幅広い光学分割能、高い段数、耐久性を示す優れた分離剤であることもよく知られている

(Y. Okamoto, M. Kawashima and K. Hatada, J. Am. Chem. Soc., 106, 5357, 1984等)。

【0003】 しかしながら、上記の物理吸着型分離剤においては、多糖誘導体を溶解あるいは膨潤せしめる溶剤は移動相に使用することができず、分離条件選択に制約があった。また、分離剤に強く吸着する汚染物質の洗浄においても、洗浄溶剤が制限されるという欠点があった。これらの欠点から、①多糖誘導体をシリカゲルに直接化学結合させる（特開昭62-270,602号公報、特開平7-138,301号公報等）、②多糖誘導体をシリカゲルにコーティングした後、多糖誘導体同士を架橋させる（特開平8-59,702号公報等）、あるいは③多糖誘導体をシ

リカゲルにコーティングした後、多糖誘導体表面に合成ポリマーを被覆させる（特願平9-271,064号等）ことで、多糖誘導体をシリカゲルに固定して、耐溶剤性をもたせる固定化型分離剤も提案されている。

【0004】 さて、近年、多糖誘導体系キラル固定相を用いた光学異性体の分取法（製造法）が注目されてきており、いくつかの特定の分離対象物に対する分取法がそれぞれ提案されている（特開昭61-161,226号公報、特開昭61-267,536号公報、特開平2-69,456号公報、W O95/23125号公報等）。

【0005】 しかし、これら先行文献に開示されているキラル固定相は物理吸着型分離剤であるため、移動相溶剤の種類が限られ、ヘキサン／アルコール系溶剤がほとんどである。この場合、ヘキサン／アルコール系溶剤に対して、溶解性の低い試料（分離対象物）では、低い分取生産性しか得られないという短所があった。

【0006】 一方、前記の固定化型分離剤を用いて、光学異性体のクロマト分離を行う場合の具体的な移動相については、いまだよく研究がなされておらず、特に、高い分取生産性を与える移動相に関しては知られていなかった。

【0007】 このような背景の下に、本発明が解決しようとする課題は、キラル固定相として多糖誘導体系キラル固定相を用いたクロマト分離法において、高い分離性能、特に分取の場合は高い分取生産性を与える移動相溶剤を使用する光学異性体のクロマト分離法を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】 本発明者は、前記の課題を解決するため、鋭意研究した結果、本発明に到達した。すなわち、本発明は、キラル固定相として多糖誘導体系キラル固定相を用い、移動相溶剤として、エーテル系溶剤、ケトン系溶剤、エステル系溶剤、アミド系溶剤及びハロゲン系溶剤からなる群より選ばれる溶剤（以後、B溶剤と呼ぶ）と、炭化水素系溶剤（以後、A溶剤と呼ぶ）との組み合わせからなる混合溶剤を用いることを特徴とする光学異性体のクロマト分離法である。

【0009】

【発明の実施の形態】 以下、本発明の実施の形態を詳細に説明する。

【0010】 本発明において、多糖誘導体系キラル固定相は、固定化型分離剤であり、具体的には、①多糖誘導体を担体に直接化学結合させる、②多糖誘導体を担体にコーティングした後、多糖誘導体同士を架橋させる、あるいは③多糖誘導体を担体にコーティングした後、多糖誘導体表面に合成ポリマーを被覆させることで、多糖誘導体を担体に固定して、耐溶剤性をもたせたものである。これら多糖誘導体系キラル固定相は、前記先行文献に記載の公知の方法で製造することができる。これら以外にも、光照射、ラジカル重合等の処理を施すことによ

って、不溶性を付与した多糖誘導体系キラル固定相でもよい。

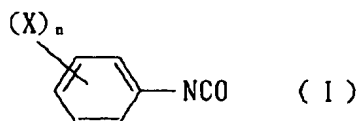
【0011】本発明の多糖誘導体系キラル固定相を形成する多糖とは、合成多糖、天然多糖及び天然物変成多糖のいずれかを問わず、光学活性であればいかなるものでもよいが、好ましくは結合様式の規則性の高いものが望ましい。例示すれば β -1,4-グルカン（セルロース）、 α -1,4-グルカン（アミロース、アミロペクチン）、 α -1,6-グルカン（デキストラン）、 β -1,6-グルカン（ブスツラン）、 β -1,3-グルカン（例えばカードラン、シゾフィラン等）、 α -1,3-グルカン、 β -1,2-グルカン（Crown Gall 多糖）、 β -1,4-ガラクトタン、 β -1,4-マンナン、 α -1,6-マンナン、 β -1,2-フラクタン（イヌリン）、 β -2,6-フラクタン（レバン）、 β -1,4-キシラン、 β -1,3-キシラン、 β -1,4-キトサン、 α -1,4-N-アセチルキトサン（キチン）、プルラン、アガロース、アルギン酸等であり、アミロースを含有する澱粉も含まれる。これらの中では、高純度の多糖を容易に入手できるセルロース、アミロース、 β -1,4-キシラン、 β -1,4-キトサン、キチン、 β -1,4-マンナン、イヌリン、カードラン等が好ましく、特にセルロース、アミロースが好ましい。

【0012】これらの多糖の数平均重合度（1分子中に含まれるピラノースあるいはフラノース環の平均数）は5以上、好ましくは10以上であり、特に上限はないが、500以下であることが取り扱いの容易さの点で望ましい。

【0013】本発明に用いられる多糖誘導体としては、上記のような多糖の水酸基の一部に該水酸基と反応しうる官能基を有する化合物を、従来公知の方法でエステル結合、ウレタン結合あるいはエーテル結合等させることにより誘導体化して得られる化合物が挙げられる。ここで水酸基と反応しうる官能基を有する化合物としては、イソシアン酸誘導体、カルボン酸、エステル、酸ハライド、酸アミド、ハロゲン化物、エポキシ化合物、アルデヒド、アルコールあるいはその他脱離基を有する化合物であればいかなるものでもよく、これらの脂肪族、脂環族、芳香族、ヘテロ芳香族化合物を用いることができる。これらの化合物の中では、下記一般式（I）で表される化合物が特に好ましい。

【0014】

【化1】



【0015】（式中、X はハロゲン原子又は炭素数1～3のアルキル基を示し、n は1～3の数を示す。）

本発明に用いられる多糖誘導体として特に好ましいもの

は、1単糖当たり 0.1個以上のエステル結合又はウレタン結合を有する多糖のエステル又はカルバメート誘導体である。

【0016】本発明の多糖誘導体系キラル固定相を製造する際に用いられる担体としては、多孔質有機担体または多孔質無機担体が挙げられ、好ましくは多孔質無機担体である。多孔質有機担体として適当なものは、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート等からなる高分子物質であり、多孔質無機担体として適当なものは、シリカ、アルミナ、マグネシア、ガラス、カオリン、酸化チタン、ケイ酸塩、ヒドロキシアパタイトなどであり、特に好ましい担体はシリカゲルである。担体の粒径は $0.1\mu\text{m} \sim 10\text{mm}$ 、好ましくは $1\mu\text{m} \sim 300\mu\text{m}$ であり、平均孔径は $10\text{\AA} \sim 100\mu\text{m}$ 、好ましくは $50\text{\AA} \sim 50000\text{\AA}$ である。担体としてシリカゲルを用いる場合、その表面は残存シラノールの影響を排除するために表面処理が施されていることが望ましいが、全く表面処理が施されていなくても問題ない。

【0017】本発明において移動相溶剤は、上記A溶剤とB溶剤とを組み合わせた混合溶剤であるが、B溶剤のうち、エーテル系溶剤としてはテトラヒドロフラン（THF）等が、ケトン系溶剤としてはアセトン等が、エステル系溶剤としては酢酸エチル等が、アミド系溶剤としてはN,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド等が、ハロゲン系溶剤としてはクロロホルム、塩化メチレン等が挙げられる。またA溶剤の炭化水素系溶剤としてはヘキサン等が挙げられる。本発明に用いられる混合溶剤中のA溶剤とB溶剤の配合比率は、A/B（容量比）=95/5～10/90が好ましく、90/10～20/80が更に好ましい。

【0018】本発明における移動相溶剤は、従来の物理吸着型分離剤には、多糖誘導体の溶解性の点からあまり適用されてこなかったものであるが、本発明においては固定化型分離剤を使用するため、適用が可能となった。本発明における移動相溶剤には、必要に応じて、ジエチルアミン、あるいはトリフルオロ酢酸を少量添加することができる。本発明における移動相溶剤の適用によって、従来のヘキサン/アルコール系溶剤と比べると、驚くべきほどに分離性能が良好となり、分取生産性が向上した。

【0019】本発明の光学異性体のクロマト分離法は、単カラムによる回分式プロセスでも、複数本のカラムを連続した連続式の擬似移動床法プロセスでも適用できる。

【0020】

【発明の効果】本発明の光学異性体のクロマト分離法により、高い分離性能、特に分取の場合は高い分取生産性が得られ、経済的に光学活性体の製造が可能となる。

【0021】

【実施例】以下に、実施例をあげ、本発明をさらに詳細

に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではなく、本発明の要旨の範囲で適宜に変形して実施することができる。なお、実施例において、分離係数 α は*

* 以下の式により求めた。

【0022】

【数1】

$$\text{分離係数 } \alpha = \frac{\text{より強く吸着されるエナンチオマーの容量比}(k')}{\text{より弱く吸着されるエナンチオマーの容量比}(k')}$$

ここで容量比(k')は次式により定義される。

$$\text{容量比}(k') = \frac{\text{エナンチオマーの保持時間} - \text{デッドタイム}}{\text{デッドタイム}}$$

【0023】製造例1

多糖誘導体をシリカゲルにコーティングした後、多糖誘導体同士を架橋させたキラル固定相の製造

① シリカゲル表面不活性化処理

多孔質シリカゲル（ダイソー株式会社製、SP-1000、粒径 $7 \mu\text{m}$ 、平均細孔径 1000\AA ）を3-アミノプロピルトリエトキシシランと反応させることにより、アミノプロピルシラン処理（APS処理）を施した。このAPS処理シリカゲル 200gを塩化メチレン 1.0リットル中、室温で、3,5-ジメチルフェニルイソシアネート15mlと1.5時間反応させた。これをグラスフィルターで濾取し、塩化メチレン/メタノール=2/1、及び塩化メチレン、エタノール、アセトン、ヘキサンで順次洗浄した後、真空乾燥を行った。

【0024】② セルロース-6-ヒドロキシ-2,3-ビス（3,5-ジメチルフェニルカルバメート）の合成
窒素雰囲気下、公知の方法によって合成したグルコース単位で、0.9から1.0個のトリチル基が反応したトリチルセルロース 4.0gを乾燥ピリジンに溶かし、3,5-ジメチルフェニルイソシアネート10mlを加えて、100℃で25時間攪拌した。これをメタノール 700mlに注ぎ込み、析出した固体を濾取し、エタノール、ヘキサンで洗浄して、乾燥後、濃塩酸入りメタノール（セルロース誘導体 1.0gにつき、0.25ml濃塩酸と40mlメタノール）中で攪拌し、トリチル基を除去した。脱トリチル化されたセルロース誘導体を濾取し、エタノール、ヘキサンで洗浄して、乾燥し、セルロース-6-ヒドロキシ-2,3-ビス（3,5-ジメチルフェニルカルバメート）14.9gを得た。

【0025】③ セルロース-6-ヒドロキシ-2,3-ビス（3,5-ジメチルフェニルカルバメート）が担持されたシリカゲルの調製

②で得たセルロース-6-ヒドロキシ-2,3-ビス（3,5-ジメチルフェニルカルバメート）1.5gを8mlのTHFに溶解し、これを①のシリカゲル 5.7gへ均一にふりかけ、塗布した。溶剤を留去した後、メタノール、エタノール、ヘキサンで順次洗浄し、乾燥して、セルロース誘導体が担持されたシリカゲル 7.1gを得た。

【0026】④ セルロース誘導体同士のみの架橋反応によるシリカゲルへの固定化

③で得たセルロース誘導体が担持されたシリカゲル 6.7 50

10 gへ、乾燥トルエン35mlを加え、さらにジフェニルメタンジイソシアネート110mg、乾燥ピリジン5ml溶液を加えて、110℃で5時間加熱攪拌した。反応終了後、濾取し、THF、メタノール、エタノール、ヘキサンで順次洗浄した後、真空乾燥を行い、セルロース誘導体同士のみの架橋反応によってシリカゲルへ固定化された分離剤 6.8gを得た。

【0027】⑤ シリカゲルに固定化されたセルロース誘導体の未反応水酸基の修飾

④で得た分離剤へ、乾燥トルエン25ml、乾燥ピリジン25mlを加え、さらに、3,5-ジメチルフェニルイソシアネート 0.5mlを加えて、110℃で18時間加熱攪拌し、セルロース誘導体同士のみの架橋反応によってシリカゲルへ固定化されたセルロース誘導体の未反応水酸基のカルバモイル化を行った。反応終了後、濾取し、THF、メタノール、エタノール、ヘキサンで順次洗浄した後、真空乾燥を行い、その結果得られた最終分離剤は 6.9gであった。シリカゲルへのセルロース誘導体の担持量は、20%（セルロース中のグルコース単位の水酸基3個のうち、2.7個がカルバモイル化されているとして計算）であった。

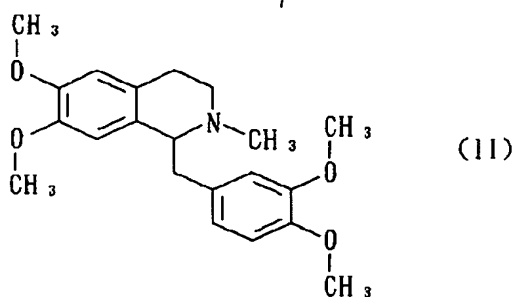
【0028】⑥ ⑤で得られた分離剤のカラムへの充填
⑤で製造したセルロース誘導体同士のみの架橋反応によってシリカゲル上に固定化された分離剤 3.5gを、分散溶剤及び加圧溶剤にメタノールを用いて、スラリー充填法により、長さ25cm、内径0.46cmのステンレス製カラムに充填した。このときの圧力は 250kgf/cm^2 であった。

【0029】実施例1～3、比較例1

移動相溶剤として表1に示す混合溶剤を用い、下記条件で、下記式(II)で表されるラウダノシンのラセミ体を光学分割した。結果を表1に示す。

【0030】

【化2】



* 【0031】＜光学分割条件＞

キラル固定相：製造例1で製造した分離剤

移動相流速：1.0 ml/min

温度：40℃

検出：254nm

試料濃度：2 mg/1.0ml

打ち込み量：20 μl

【0032】

* 【表1】

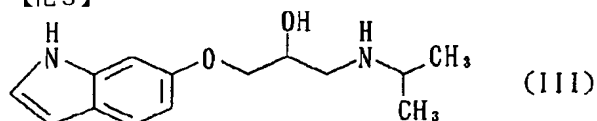
	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例1	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =65/35/0.1	4.35
実施例2	ヘキサン/酢酸エチル/ジエチルアミン =75/25/0.1	4.28
実施例3	ヘキサン/塩化メチレン/ジエチルアミン =50/50/0.1	3.18
比較例1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1	2.74

【0033】実施例4～6、比較例2

移動相溶剤として表2に示す混合溶剤を用い、下記条件で、下記式(III)で表されるピンドロールのラセミ体を光学分割した。結果を表2に示す。

【0034】

【化3】



20※ 【0035】＜光学分割条件＞

キラル固定相：製造例1で製造した分離剤

移動相流速：1.0 ml/min

温度：40℃

検出：254nm

試料濃度：2 mg/1.0ml

打ち込み量：20 μl

【0036】

【表2】

※30

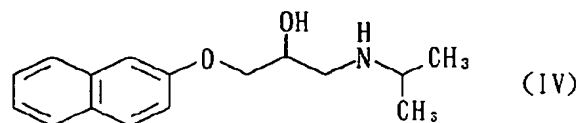
	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例4	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =75/25/0.1	2.17
実施例5	ヘキサン/酢酸エチル/ジエチルアミン =60/40/0.1	2.08
実施例6	ヘキサン/塩化メチレン/ジエチルアミン =20/80/0.1	2.25
比較例2	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =75/25/0.1	1.72

【0037】実施例7～9、比較例3

移動相溶剤として表3に示す混合溶剤を用い、下記条件で、下記式(IV)で表されるプロプラノロールのラセミ体を光学分割した。結果を表3に示す。

【0038】

【化4】



【0039】＜光学分割条件＞

キラル固定相：製造例1で製造した分離剤

移動相流速：1.0 ml/min

温度：40℃

50 検出：254nm

試料濃度 : 2 mg / 1.0 ml

* 【0040】

打ち込み量 : 20 μ l

* 【表3】

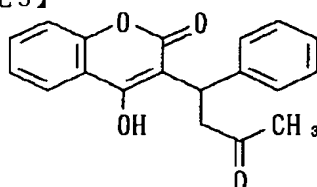
	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例 7	ヘキサン / THF / ジエチルアミン = 80 / 20 / 0.1	1.71
実施例 8	ヘキサン / 酢酸エチル / ジエチルアミン = 75 / 25 / 0.1	1.33
実施例 9	ヘキサン / 塩化メチレン / ジエチルアミン = 75 / 25 / 0.1	1.70
比較例 3	ヘキサン / 2-プロパノール / ジエチルアミン = 90 / 10 / 0.1	1.37

【0041】 実施例10~12、比較例 4

移動相溶剤として表 4 に示す混合溶剤を用い、下記条件で、下記式 (V) で表されるワルファリンのラセミ体を光学分割した。結果を表 4 に示す。

【0042】

【化5】



(V)

20

※ 【0043】 <光学分割条件>

キラル固定相：製造例 1 で製造した分離剤

移動相流速 : 1.0 ml / min

温度 : 40°C

検出 : 254nm

試料濃度 : 2 mg / 1.0 ml

打ち込み量 : 20 μ l

【0044】

【表4】

※

	移動相溶剤 (容量比)	分離係数 α
実施例10	ヘキサン / THF / トリフルオロ酢酸 = 80 / 20 / 0.1	1.82
実施例11	ヘキサン / 酢酸エチル / トリフルオロ酢酸 = 80 / 20 / 0.1	1.87
実施例12	ヘキサン / 塩化メチレン / トリフルオロ酢酸 = 50 / 50 / 0.1	1.97
比較例 4	ヘキサン / 2-プロパノール / トリフルオロ酢酸 = 70 / 30 / 0.1	1.75

【0045】 実施例13、比較例 5, 6

キラル固定相として製造例 1 で製造した分離剤 (実施例 13, 比較例 5) 又はセルローストリス (3,5-ジメチルフェニルカルバメート) をシリカゲルにコーティングした分離剤 (商品名: CHIRALCEL OD、ダイセル化学工業株式会社製、比較例 6)、移動相溶剤として表 5 に示す混合溶剤を用い、下記条件で、上記式 (V) で表されるワルファリンのラセミ体の光学分割を行い、下記方法で分取生産性を評価した。結果を表 5 に示す。また、実施例 13 で得られたクロマトグラムを図 1 に、比較例 5 で得られたクロマトグラムを図 2 に、比較例 6 で得られたクロマトグラムを図 3 にそれぞれ示す。

【0046】 <光学分割条件>

移動相流速 : 1.0 ml / min

温度 : 40°C

検出 : 254 nm

<分取生産性評価法> 移動相で最大溶解量のラセミ体打ち込み量を増やしてゆき、ほぼベースライン分離しなくなった時点での打ち込み量 (ラセミ体最大打ち込み量) の 1/2 を 1 回打ち込み当たりのエナンチオマー最大打ち込み量 (mg / 回)、第 1 ピークの立上がりから第 2 ピークがベースラインに戻るまでのピークインターバル時間を Δt (min / 回) とし、下記の式により分取生産性 (1 時間当たりの各エナンチオマー分取量; mg/hr) を求めた。

【0047】 分取生産性 (mg/hr) = エナンチオマー最大打ち込み量 (mg / 回) \times 1 時間当たりの打ち込み回数 (回/hr)

ここで、1 時間当たりの打ち込み回数は、以下の式で定義される。

1 時間当たりの打ち込み回数 (回/hr) = 60 (min/h) / Δt (min / 回)

【0048】

* * 【表5】

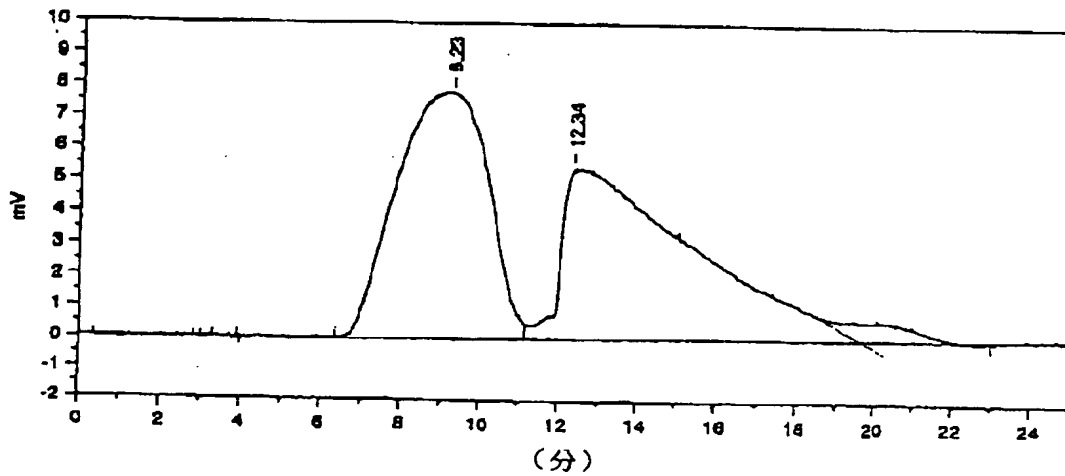
	実施例 13	比較例 5	比較例 6
キラル固定相	製造例1で製造した分離剤	製造例1で製造した分離剤	CHIRALCEL OD
移動相溶剤 (容量比)	ヘキサン/THF/ジエチルアミン =65/35/0.1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1	ヘキサン/エタノール/ジエチルアミン =85/15/0.1
分離係数 α	4.35	2.74	1.85
ラセミ体の最大溶解量	10.0 mg/ml	5.0 mg/ml	5.0 mg/ml
ラセミ体打ち込み量	2.5 ml	3.0 ml	1.0 ml
ラセミ体最大打ち込み量	25.0 mg (10×2.5)	15.0 mg (5.0×3.0)	5.0 mg (5.0×1.0)
サンプル最大打ち込み量	12.5 mg/回 (25.0/2)	7.5 mg/回 (15.0/2)	2.5 mg/回 (5.0/2)
ピークインターバル 時間 Δt	13.2 min	15.5 min	4.6 min
1時間当たり打ち込み回数	4.5 回/hr (60/13.2)	3.9 回/hr (60/15.5)	13.0 回/hr (60/4.6)
分取生産性	56.3 mg/hr (12.5×4.5)	29.2 mg/hr (7.5×3.9)	32.5mg/hr (2.5×13.0)

【図面の簡単な説明】

※ 【図2】 比較例5で得られたクロマトグラムである。

【図1】 実施例13で得られたクロマトグラムである。 ※ 【図3】 比較例6で得られたクロマトグラムである。

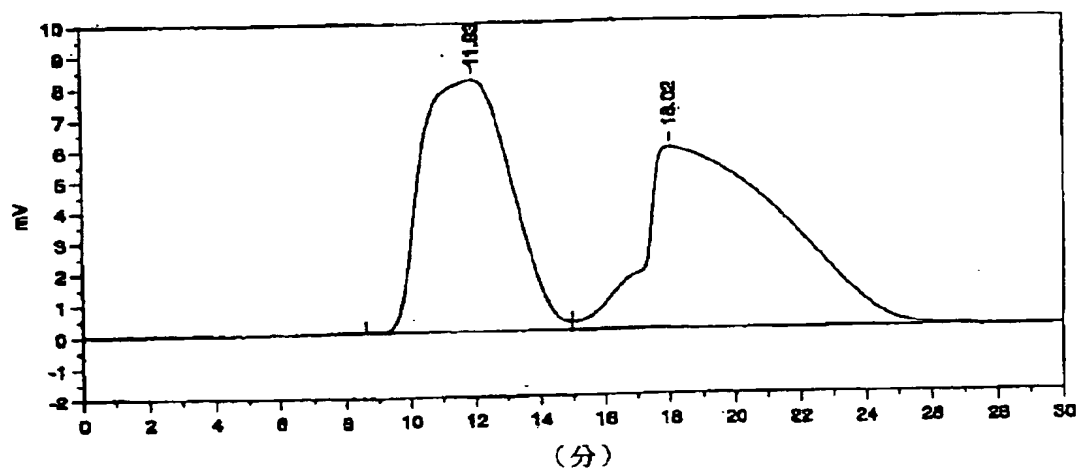
【図1】



(8)

特開平 1 1 - 2 5 5 6 7 1

【図 2】



【図 3】

